

**Эндотелиальная дисфункция
у пациентов с Rh-негативными
миелопролиферативными новообразованиями:
возможная роль
полиморфизма –65 Т/С в гене
глутатионпероксидазы 3 (GPX3)**

Корсакова Н.Е., Капустин С.И., Головина О.Г., Силина Н.Н., Папаян Л.П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства»,
Санкт-Петербург



korsakova@niigt.ru



Актуальность

- Тромботические осложнения представляют собой одну из основных клинических проблем пациентов с Rh-негативными миелопролиферативными новообразованиями (МПН), в том числе эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ), истинной полицитемией (ИП) и первичным миелофиброзом (ПМФ), нередко приводя к инвалидизации и летальному исходу.
- Эндотелиальная дисфункция (ЭД) является ключевым звеном в развитии тромбоза.
- Одним из механизмов, способствующих развитию ЭД при МПН, выступает повреждающее действие активных форм кислорода (АФК), образуемых активированными лейкоцитами крови.
- Активность компонентов антиоксидантной системы, в частности, глутатионпероксидазы, участвующей в элиминации АФК, зависит от наличия различных аллельных вариантов соответствующего гена.

Цель исследования:

Оценить частоту встречаемости различных генотипов глутатионпероксидазы3 (GPX3) и степень выраженности ЭД у пациентов с МПН



Объекты и материалы исследования

- Исследование включало 121 пациента с Rh-негативными МПН, в том числе 34 с диагнозом ЭТ, 47 – ИП, 40 – ПМФ (возраст 21-86 лет, медиана 55 лет).
- Контрольную группу составляли 67 практически здоровых добровольцев (для оценки маркеров ЭД) и 200 здоровых лиц, не имевших в анамнезе тромботических осложнений (для исследования аллельного полиморфизма), соответствовавшие по возрасту группе обследованных больных.
- Материал исследования: образцы периферической крови, полученные путём пункции локтевой вены. Определение маркеров ЭД проводили в бедной тромбоцитами плазме, стабилизированной 3,8% раствором цитрата натрия. Для генетического исследования использовали геномную ДНК, выделенную из лейкоцитов периферической крови, стабилизированной ЭДТА в конечной концентрации 0,25%.

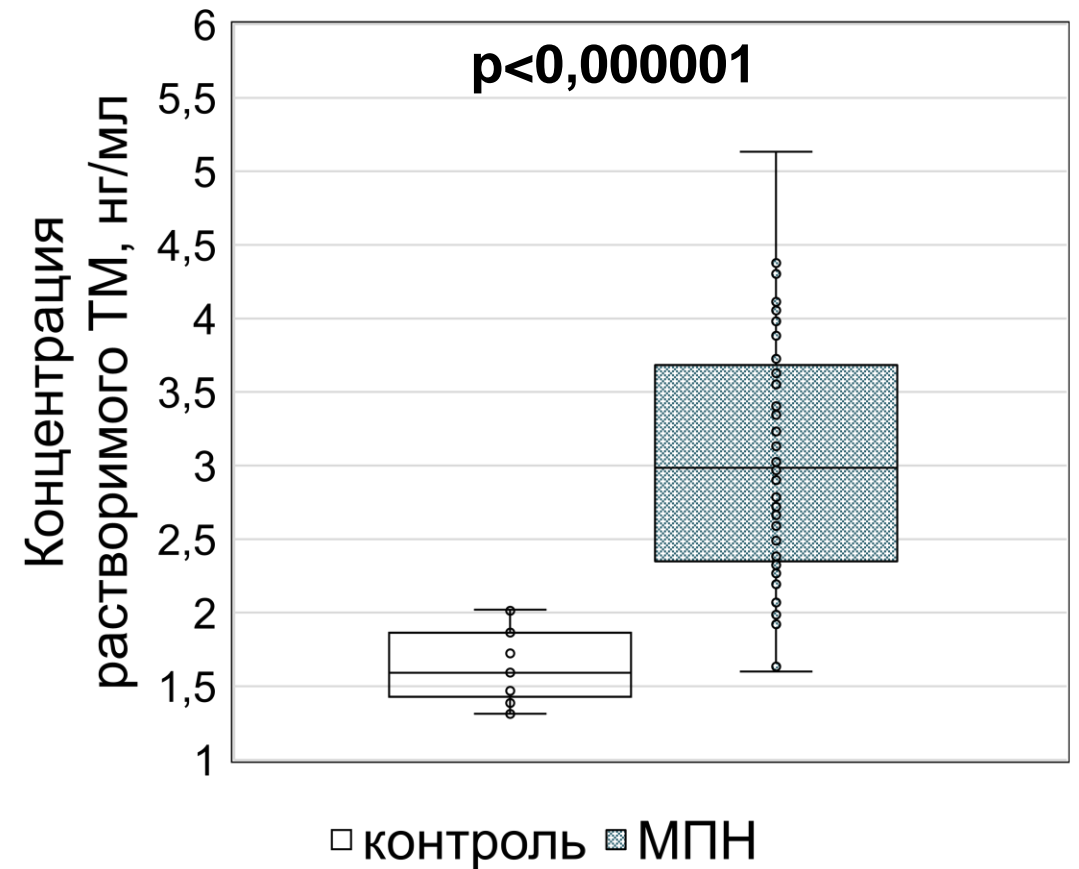
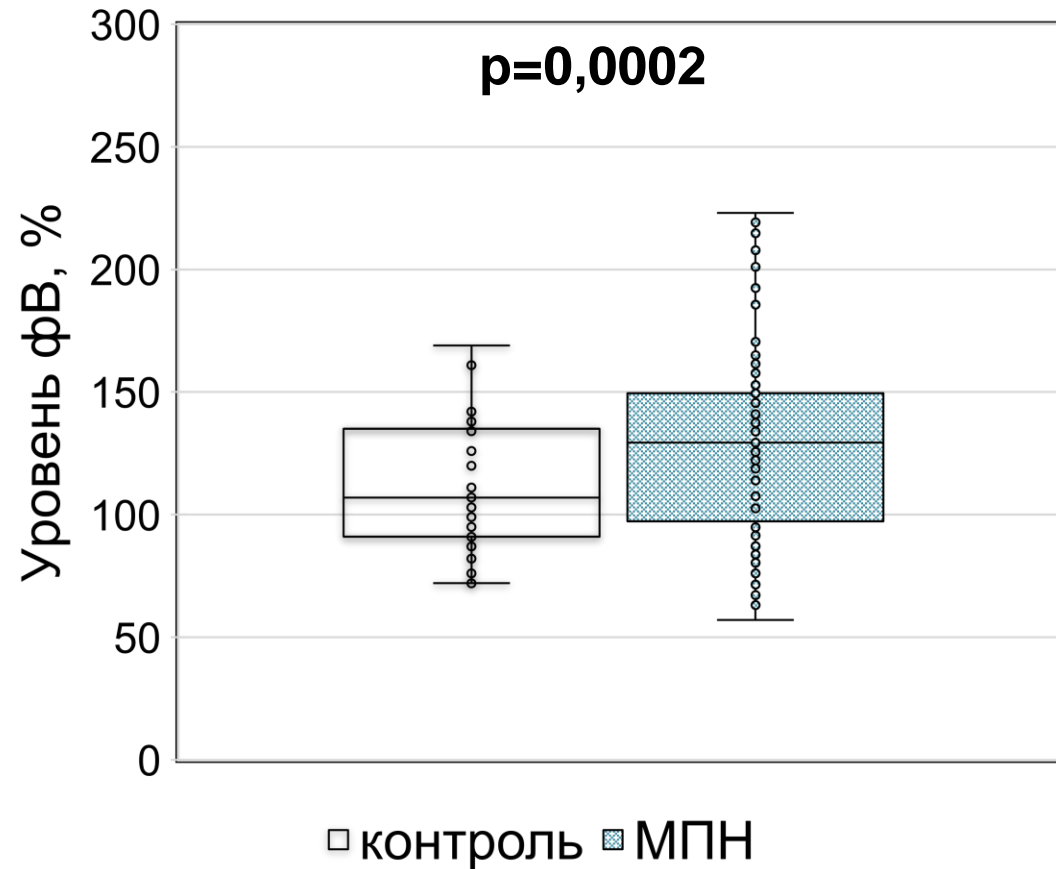


Методы исследования

- Определение уровня фактора Виллебранда (фВ) проводили иммунотурбидиметрическим методом с помощью автоматического коагулометра.
- Определение концентрации растворимого тромбомодулина (ТМ) осуществляли методом твёрдофазного фермент-связанного иммуносорбентного анализа по принципу «сэндвич».
- Выделение геномной ДНК проводили с помощью солевого метода. Выявление аллельных вариантов гена GPX3 (локализация 5q33.1) осуществляли с помощью метода ПЦР-ПДРФ.
- Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программ STATISTICA 6.0 и GraphPad Prism 7.0. Для сравнения результатов определения маркеров ЭД применяли U-тест Манна-Уитни. Для оценки степени различий в частоте встречаемости генотипов использовали точный критерий Фишера, рассчитывали коэффициент «отношения шансов» (OR) с 95% доверительным интервалом (CI). Во всех случаях различия считали значимыми при $p < 0,05$.



Результаты: определение маркеров ЭД





Результаты: частота встречаемости (ЧВ) различных генотипов GPX3

Ген, полиморфизм	Генотип	ЧВ генотипа, %		OR (95%CI)	p
		Контрольная группа (n=200)	МПН (n=78)		
GPX3, -65 T/C	-65 TT	75,0	65,6	0,6 (0,3-1,2)	0,15
	-65 TC	24,5	26,9	-	-
	-65 CC	0,5	7,5	15,4 (1,8-134,4)	0,005

Примечания: OR – odds ratio
CI – confidence interval



Выводы

- У обследованных пациентов с Rh-негативными МПН уровень фактора Виллебранда и концентрация растворимого тромбомодулина значительно превышали показатели здоровых лиц, свидетельствуя о выраженном развитии эндотелиальной дисфункции.
- Среди обследованных больных МПН в 15 раз чаще встречались гомозиготные носители варианта -65С гена GPX3, ассоциированного со снижением активности фермента глутатионпероксидазы 3.
- Высокая степень выраженности эндотелиальной дисфункции при Rh-негативных МПН может быть связана со снижением активности глутатионпероксидазы 3 как компонента антиоксидантной системы.
- Контроль антиоксидантной системы может способствовать целенаправленной профилактике и/или лечению тромботических осложнений при Rh-негативных миелопролиферативных новообразованиях.